

AUS DEM PHARMAKOLOGISCHEN INSTITUT DER
JOHANNES GUTENBERG-UNIVERSITÄT MAINZ
DIREKTOR: PROFESSOR DR. G. KUSCHINSKY

ÜBER DIE EIGNUNG VON PARAMECIEN ZUR PHARMAKOLOGISCHEN PRÜFUNG VERSCHIEDENER SUBSTANZEN

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

KARLHEINZ SCHMITTEL
aus Leipzig

Mainz 1966

1967



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554814_0065

ÜBER DIE EIGNUNG VON PARAMECIEN ZUR PHARMAKOLOGISCHEN PRÜFUNG VERSCHIEDENER SUBSTANZEN

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

KARLHEINZ SCHMITTEL
aus Leipzig

Mainz 1966

ÜBER DIE EIGNUNG VON PARAMEDIZIN
ZUR PHARMAKOLOGISCHEN PRÜFUNG
VERSCHIEDENER SUBSTANZEN



Dekan: Prof. Dr. J. Borneff
Referent: Priv. Doz. Dr. W. Klaus
Korreferent: Prof. Dr. G. Kuschinsky

Tag der mündlichen Prüfung: 27. Januar 1967

Inhaltsverzeichnis

	Seite
A. Einleitung	3
B. Methodik	5
Versuchstier	5
Kulturmilieu	5
Temperatur	5
Vorbehandlung	6
Untersuchungsmilieu	6
Untersuchungstechnik	7
Substanzen und Lösungen	9
Berechnung der Versuchsergebnisse	10
Versuchsreihen	11
Prüfung der Oberflächenaktivität	13
C. Ergebnisse	15
I. Methodische Besonderheiten	15
1. Aqua dest.- Milieu	15
2. Kulturmilieu	19
3. pH - Abhängigkeit	19
4. Einfluß von Erschütterungen	20
II. Dosis - Wirkungskurven	22
1. Ganglionär angreifende Stoffe	22
2. Antisymphotonika	23
3. Adrenerge Substanzen	24
4. Parasympatholytika	25
5. Parasympathomimetika	26
6. Muskelrelaxantien	27
7. Verschiedene Stoffe	28
a. oberflächenaktive Stoffe	28
b. Zucker	29
c. Strophanthin	29
d. Procain	29
8. Tabelle der mittleren aequieffektiven Konzentrationen der Teststoffe, deren Salzformen und Molekulargewichte	30

	Seite
III. Antagonistische Versuche	31
1. Versuche zum Nachweis sympathoider Strukturen	31
a. DHE - Adrenalin	31
b. DCI - Adrenalin	32
2. Versuche zum Nachweis parasymphathoider Strukturen	33
a. Acetylcholin - Atropinmethylnitrat - Gemisch	33
b. Acetylcholin - Atropinmethylnitrat - Vorinkubation	34
c. Carbacholin - Atropinmethylnitrat - Vorinkubation	37
3. Andere Versuche	38
IV. Messung der Oberflächenspannung	40
D. Diskussion	41
1. Kulturmilieu	41
2. Ausscheidungsprodukte	41
3. Alter des Klons	42
4. Kulturalter	42
5. Negative Geotaxis	42
6. Schwankungen der Meßwerte und Streuungen	43
7. Molalität der Verdünnungen	45
8. Form der Kurven	47
9. Beobachtete Bewegungen	47
10. Schädigung während der Versuche	48
11. Schwimmgeschwindigkeit	48
12. Penetration	49
13. pH - Bereich	49
14. Antagonistische Versuche	50
15. Schlußfolgerung	50
E. Zusammenfassung	52
F. Literaturverzeichnis	54
G. Lebenslauf	57

A. Einleitung

WENSE konnte 1934 (25) am Beispiel des Pantoffeltierchens (*Paramecium*) zeigen, daß Reaktionen der Protozoen auf chemische Reize ähnlich denen von Vielzellern - also von höheren Organismen - sind. Daraus wurde auf eine Analogie der Reaktion des Einzellerprotoplasmas mit der Warmblüterzelle geschlossen.

Unter den bisher angewandten Methoden sind die Chemotaxis (7), die Messung der Schwimgeschwindigkeit (17), der Vakuolenpulsation (5;18), sowie Viskositäts- (3) und Fertilitätsversuche (1) und schließlich die Messung von Biopotentialen (11) unter dem Einfluß verschiedener Pharmaka zu nennen.

Die Wirkung von Pharmaka auf die Zellen eines höheren Organismus mit einer Vielzahl differenzierter Zellarten wird nicht völlig mit der Reaktion eines Einzellers übereinstimmen. Dennoch enthält die Protozoenzelle alles, was zur Vermehrung und Ernährung - zur Erhaltung des Lebens erforderlich ist. Inwieweit der niedere Organismus - besonders der von Protozoen - über Strukturen verfügt, wie sie beispielsweise als Rezeptoren des adrenergen oder cholinergen Systems beim Vielzeller bekannt sind, ist bis heute nicht untersucht.

Vor 15 Jahren wurden im hiesigen Pharmakologischen Institut chemotaktische Versuche am *Paramecium caudatum*

durchgeführt, mit denen das veränderte Verhalten der Protozoen unter dem Einfluß verschiedener Pharmaka untersucht werden sollte. Als Testsubstanzen dienten Dihydroergotamin, Adrenalin, Atropin, Acetylcholin, Cholin, Carbacholin, Physostigmin und Aneurin. In allen diesen Arbeiten (15 Dissertationen), bei denen bis zu 10^{-17} molare Konzentrationen (6 Moleküle in 1 mm^3 !) getestet wurden (4), fällt auf, daß in der Regel von niedrigeren Konzentrationen als 10^{-4} molar keine direkte Dosis - Wirkungs - Beziehung mehr besteht und die Werte bei 1:10 fortlaufenden Verdünnungen zwischen 15% und 20% voneinander abweichen (4). Da häufig auch noch die Zusammensetzung des Nährmilieus (Heuinfus bzw. Bacterium - coli - Fütterung) (8;12;20) variiert wurde, ist es schwierig, die Ergebnisse miteinander in Beziehung zu setzen. Wenn man weiterhin berücksichtigt, daß die früher verwendete Versuchsanordnung nicht optimal war (s. unten), wodurch eine vergleichende Zählung beeinträchtigt wird, dann sind die voneinander abweichenden Werte zu erklären.

Aufgabe meiner Arbeit ist es deshalb, festzustellen, inwieweit die damals erhaltenen Befunde reproduzierbar sind. Im Hinblick auf neuere Pharmaka erscheint es weiterhin wichtig, zu untersuchen, ob von diesen eine spezifische Wirkung zu erwarten ist.

B. Methodik

Versuchstier

Paramecium caudatum Ehrenberg dient als Versuchstier. Es gehört in die Klasse der Ciliaten und ist eines der meistuntersuchten Protozoen. In allen Versuchen werden neue Tiere von einem Klon verwendet, d. h. die Tiere stammen alle von 2 reinstämmigen Exemplaren ab.

Kulturmilieu

970,0 g Aqua dest. werden zum Wieden erhitzt, 2,0 g Wiesenheu zugefügt, das verdampfte Wasser nach dem Erkalten ergänzt und mit 30,0 cm³ glucosefreier Tyrodelösung versetzt. Nach 24 h im Brutschrank bei 26° - 28°C wird nach Eintrübung (Bakterienansammlung im Infus) überimpft. Nach 5 - 7 Tagen ist die Populationsdichte so groß, daß sie zum Versuch ausreicht. Es befinden sich dann 2 Paramecien in einem Tropfen. Dies ist zugleich die maximal mögliche Dichte in einer Kultur (13;16).

Temperatur

Die Paramecienkultur wird im Brutschrank bei 26° - 28°C gehalten. Die Raum- und damit die Untersuchungstemperatur während der Versuche beträgt 20° - 22°C.

Vorbehandlung

Vor Versuchsbeginn wird die Kultur durch eine G₁- Fritte (Schott u. Gen., Mainz) filtriert, um die Kahmhäute und andere grobe Teilchen zu entfernen. Anschließend wird das Filtrat mit den Paramecien in eine G₃- Fritte (die Poren sind kleiner als ein Paramecium) gegeben. Durch Abfiltration von 80% der Kulturflüssigkeit wird die Populationsdichte in der Fritte von 2 Tieren/Tropfen auf 10 Tiere/Tropfen erhöht. Mit gleichem Volumen bakterienfreiem Infus wird der Fritteninhalt von den Ausscheidungsprodukten der Tiere befreit und dann die Kultur aus der Fritte in einen 50 cm³ fassenden Meßzylinder gefüllt. In 1 - 2 h kann der Versuch, bei dem vorwiegend negativ geotaktische Tiere (im oberen Raum der Kultur befindlich) verwendet werden, beginnen.

Untersuchungsmilieu

Als indifferentes Milieu für die Teststoffe wird 1 Tag altes Heuinfus verwendet. Um die Möglichkeit auszuschalten, daß darin befindliche Bakterien sich mit dem zu untersuchenden Stoff umsetzen, wird es vorher durch ein Bakterienfilter (Membranfilter - Gesellschaft, Göttingen) gegeben.

In Anlehnung an die früheren Versuche wird bei verschiedenen Bestimmungen Aqua dest. als Versuchsmilieu genommen. Die Tiere werden zu diesen Versuchen 24 h in Aqua dest. vorinkubiert.

Die Testlösungen werden bei allen Versuchen auf die gleichen pH - werte wie die Vergleichslösung mit $\frac{n}{50}$ KOH und $\frac{n}{50}$ HCl mit einem pH - Meter (Beckman - Modell G) eingestellt.

Untersuchungstechnik

Die Chemotaxis wird ermittelt, indem die Verteilung der Tiere im Test- und Vergleichstropfen nach 3 Min. Inkubation bestimmt wird.

Auf einem normalen Objektträger werden 1 Tropfen Vergleichslösung und 1 Tropfen Testlösung einander gegenüber länglich aufgetragen und beide Medien mit dem Paramecien enthaltenden Tropfen vorsichtig verbunden (s.Abb. 1).

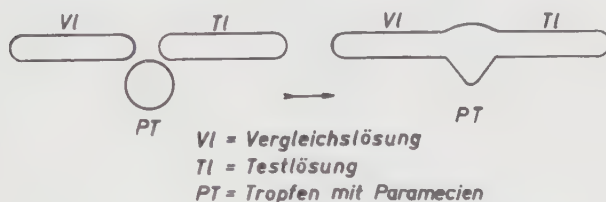


Abb. 1

Nach 3 Min. werden die Tiere im Vergleichs- und Testtropfen ausgezählt, addiert, die Summe = 100 gesetzt und nun daraus der Anteil der in den Testtropfen gewanderten Tiere in Prozent berechnet. Zeigt also die zu untersuchende Lösung keinerlei Wirkung auf die Protozoen, so resultiert eine Chemotaxis von 50%. Nach Möglichkeit wird der zugegebene Paramecium - Tropfen so gewählt, daß 15 - 25 Tiere nach der In-

kubationszeit von 3 Min. aus dem Tropfen ausgewandert sind. Versuche, bei denen unmittelbar nach Hinzugeben des Tropfens Tiere in den beiden Außentropfen zu finden sind (durch unsaubere Objektträger bedingte Störungen), werden verworfen. Zum Auszählen der Tiere wird eine Arbeitslupe verwendet (Carl Zeiss).

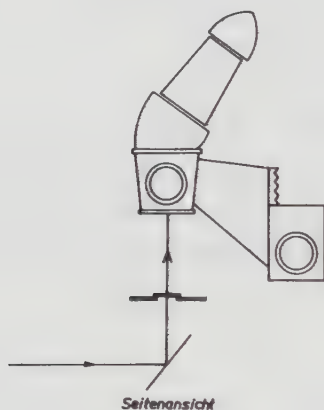


Abb. 2

Als Lichtquelle dient diffuses Tageslicht, das durch einen rechteckigen Spiegel auf alle drei Tropfen gleichmäßig verteilt wird. Um eine fünfstündige Arbeit am Gerät zu ermöglichen, wird unter abgeblendetem Licht gezählt. Der Objektisch wird mit einer Wasserwaage vertikal eingestellt, um Strömungen, die durch die Schräge des Tisches bedingt sind, auszuschalten. Die Vergrößerung beim Zählen ist fünfzehnfach.

Substanzen und Lösungen

Die zu untersuchenden Stoffe werden molar gelöst.

Hieraus werden Verdünnungsreihen 1:10 mit bakterienfreier Heuinfustyrode (3%) hergestellt.

Folgende Substanzen werden untersucht:

Hexamethoniumhydrojodid, Pentamethoniumhydrojodid;
Phentolaminhydrochlorid = Regitin^R, Dichlorisoproterenol-
hydrochlorid = DCI, Dihydroergotaminmethylsulfat = DHE;
Noradrenalin, Adrenalin; Homatropinbromid, Atropinsulfat,
Atropinmethylnitrat = Eumydrin^R; Cholinchlorid, Carba-
cholin = Doryl^R, Acetylcholinchlorid, Pilocarpinnitrat;
Decamethoniumhydrojodid, Suxamethonium = Lystenon^R,
Gallamintriaethyljodid = Flaxedil^R, d - Tubocurarinchlorid
als Pentahydrat; Laurylsulfat, n - Octanol; Glucose,
Saccharose; g - Strophanthin; Procainhydrochlorid = Novo-
cain^R.

Berechnung der Versuchsergebnisse

Die Berechnung der Versuchsergebnisse (Mittelwerte + mittlere Fehler der Mittelwerte) erfolgt nach untenstehendem Beispiel:

%	Tiere im	Tiere im
Chemotaxis	Testtropfen	Vergleichstropfen
35	12	22
41	14	20
25	8	24
17	6	30
29	7	17
19	6	25
17	4	20
33	9	18
24	8	25
17	6	19

$$\sum x_1 = 257 \quad \bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i = \frac{257}{10} = \underline{\underline{26}}$$

$$s^2 = \frac{\sum x_1^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}{n - 1}$$

$$\sum x^2 = 35^2 + 41^2 + 25^2 + 17^2 + 29^2 + 19^2 + 17^2 + 33^2 + 24^2 + 17^2 = 7265$$

$$\frac{(\sum x)^2}{n} = \frac{257^2}{10} \approx 6605$$

$$\sum x_1^2 - \frac{(\sum x_1)^2}{n} = 7265 - 6605 = 660$$

$$s^2 = \frac{660}{9} \quad s = \sqrt{\frac{660}{9}} = \underline{\underline{8,6}}$$

$$s_{\bar{x}} = \frac{s}{\sqrt{n}} = \frac{8,6}{\sqrt{10}} \approx 2,7$$

Ergebnis: 26% ± 2,7% Chemotaxis

$\sum x_1$ = Summe der Einzelwerte

$\bar{x}$ = Mittelwert

$\sum x_1^2$ = Summe der Quadrate der Einzelwerte

$$\sum x_1^2 - \frac{(\sum x_1)^2}{n} = \text{SAQ}$$

s = Standardabweichung

$s_{\bar{x}}$ = mittlerer Fehler des Mittelwertes

Bei Untersuchungen, in denen vorinkubiert wird, beträgt die Anzahl der Versuche 4 bzw. 5. Die jeweilige Summe der Einzelwerte wird dabei immer aus den in einem Zeitraum von 10 Min. ermittelten chemotaktischen Werten errechnet (s. S. 34 - 38).

Für die graphische Auswertung werden die Logarithmen der molaren Verdünnungen auf die Abszisse, die Chemotaxis in Prozenten auf die Ordinate aufgetragen. Jeder Punkt einer Dosis - Wirkungskurve ohne Vorinkubation stellt den Mittelwert von zehn Einzelversuchen dar. In sämtlichen Abbildungen sind die Mittelwerte mit den mittleren Fehlern der Mittelwerte (angegeben $\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$) bei verschiedenen Festkonzentrationen eingetragen.

Versuchsreihen

Zunächst werden von verschiedenen Gruppen vegetativ wirksamer Substanzen Dosis - Wirkungskurven aufgestellt.

Dann wird bei Stoffen, die beim höheren Organismus parasymphomimetische oder parasymphatholytische Wirkung zeigen,

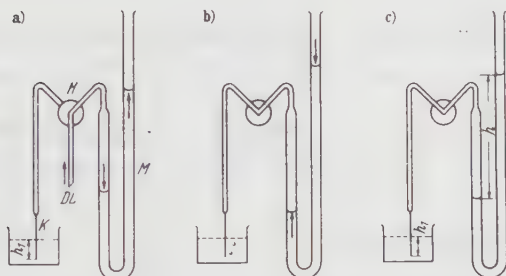
versucht, mit Hilfe der Chemotaxis Antagonismen aufzuzeigen. Meistens werden Konzentrationen der entsprechenden Einzeldosis - Wirkungskurven verwendet (aequieffektive Konzentrationen). Dabei lasse ich die angenommenen Antagonisten in einer Versuchsserie vereinigt auf die Protozoen wirken (s.S.31 - 33), während ich in einer zweiten Versuchsanordnung mit den schwächer wirksamen vorinkubiere (immer mit dem Parasympathomimetikum) und dann unter Berücksichtigung eines Zeitfaktors gegen jeweils eine bestimmte Konzentration des Parasympatholytikums untersuche (s.S.34 - 38).

Da bei der Untersuchung verschiedener Stoffe (Atropin, Pentamethoniumjodid, Decamethoniumjodid, Homatropin, Atropinmethylnitrat) in hochmolarer Lösung ein Zusammenfließen des Tropfens zu beobachten ist, sich somit also die Oberflächenspannung ändert, prüfe ich außerdem die Möglichkeit, ob die Tiere unter anderem empfindlich auf oberflächenaktive Stoffe reagieren. Es werden deshalb vergleichende Oberflächenaktivitätsbestimmungen angestellt (s. nächstes Kapitel).

Außerdem wird der Versuch gemacht, neben einigen oberflächenaktiven Substanzen wie Laurylsulfat und n - Octanol, Stoffe mit an der höheren Zelle nachgewiesenem, völlig anderem Wirkungsmechanismus (also keinesfalls oberflächenaktiv), wie Procainhydrochlorid und Strophanthin, ebenfalls in ihrer Dosiswirkungsbeziehung mit der chemotaktischen Methode zu prüfen.

Prüfung der Oberflächenaktivität

Die Messung der Oberflächenaktivität erfolgt mit einem von G. SCHLEN (21) entwickelten und von H. W. Schmidt, Mainz hergestellten Gerät.



Prinzip der Kapillardruck-Methode

K = Kapillare, H = Dreiweghahn, M = Manometer, DL = Druckluft
a) Durch einen Gummiball oder mit dem Mund wird Druck erzeugt. b) Die Luft entweicht aus der Kapillare in Form von Blasen. c) An einer Millimeter-skala wird der Meniskenabstand der beiden Manometersäulen (h) abgelesen

Abb. 3 Schematische Darstellung des Gerätes zur Messung der Oberflächenspannung

Das Gerät arbeitet nach dem Prinzip der Kapillardruck - Methode (21). Zur Ermittlung der Oberflächenspannung wird der statische Druck gemessen, der auf dem Kapillarende ruht (s. Abb. 3). Der Meßvorgang beginnt mit der Erzeugung eines genügend hohen Druckes (DL) über den Dreiweghahn (H) (s. Abb. 3, Skizze a) im Manometerteil (M). Nach Drehung des Dreiweghahns wird die zu prüfende Flüssigkeit kommunizier-

rend (s. Abb. 3, Skizze b) mit dem Manometer verbunden. Vor und während der Messung taucht die Kapillare K um den Betrag h_1 in die Testflüssigkeit ein. Die Größe h_1 ist also eine Konstante. Als Faktor für die Größe der Oberflächenaktivität wird der Wert h abgelesen (s. Abb. 3, Skizze c). Die jeweilige Oberflächenaktivität in dyn/cm ergibt sich nach dem Einsetzen der Größe h in untenstehende Formel:

$$\delta = \frac{D \cdot g \cdot r}{2} (h - h_1) = \left[\frac{\text{g} \cdot \text{cm} \cdot \text{cm} \cdot \text{cm}}{\text{cm}^3 \cdot \text{sec}^2} = \frac{\text{g}}{\text{sec}^2} = \frac{\text{dyn}}{\text{cm}} \right]$$

Die Oberflächenaktivität g/sec^2
entspricht im CGS - System dyn/cm.

$$= \frac{1,981 \cdot 0,0112}{2} (h - 1)$$

$$= 5,05 \cdot (h - 1)$$

- D = Dichte des dest. wassers bei 18°C = 1 g/cm^3
 g = Erdbeschleunigung = 981 cm/sec^2
 r = Innendurchmesser der Durchlaufkapillare = $0,0112 \text{ cm}$
 h_1 = Standardhöhenunterschied bei meiner Versuchsanordnung = 1 cm
 h = gemessene Höhendifferenz (in cm) abhängig von der Oberflächenaktivität des Stoffes bzw. der Lösung

Hierzu ein Beispiel:

Bei Aceton beträgt die gemessene Höhendifferenz

$h = 5,4 \text{ cm}$; danach ist:

$$\begin{aligned} \delta &= 5,05 \cdot (5,4 - 1) \\ &= 5,05 \cdot 4 \\ &= 20,2 \text{ dyn/cm} \end{aligned}$$

C. Ergebnisse

I. Methodische Besonderheiten

1. Aqua dest.- Milieu

Werden Paramecien verschieden lange Zeit in Aqua dest. inkubiert, so zeigt sich eine Änderung der Chemotaxis. Tiere, die 24 h lang in Aqua dest. vorinkubiert werden, zeigen eine verminderte Resistenz bzw. größere Empfindlichkeit gegen Testsubstanzen (s. Beispiele in Abb. 4 und 5).

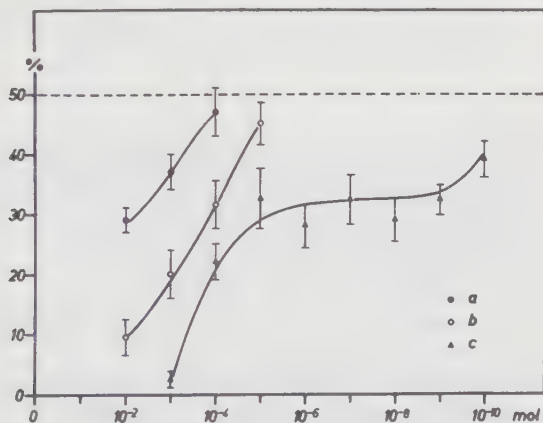


Abb. 4 Die Chemotaxis von Paramecien (in Prozent; Ordinate) gegenüber verschiedenen Hexamethoniumkonzentrationen (mol/l; Abszisse) in Abhängigkeit von der Vorbehandlung
Testmilieu: Aqua dest.
a. Paramecien in Kulturmilieu
b. Paramecien 5 h in Aqua dest. vorinkubiert
c. Paramecien 24 h in Aqua dest. vorinkubiert

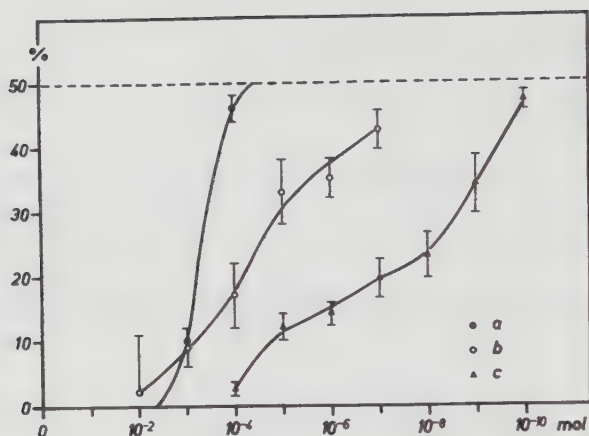


Abb. 5 Die Chemotaxis von Paramecien (in Proz.; Ordinate) gegenüber verschiedenen Atropinkonzentrationen (mol/l; Abszisse) in Abhängigkeit von der Vorbehandlung
 Testmilieu bei a: Heuinfus tyrodelösung (3%)
 Testmilieu bei b und c: Aqua dest.
 a. Paramecien in Kulturmilieu
 b. Paramecien 5 h in Aqua dest. vorinkubiert
 c. Paramecien 24 h in Aqua dest. vorinkubiert

Das Ausmaß der positiven Chemotaxis nimmt nach diesen Versuchen mit zunehmender Dauer der Aqua dest.- Inkubation ab.

Nach 24 h Aqua dest.- Inkubation finden sich z. T. über mehrere Potenzen der geprüften Substanzen gleiche chemotaktische Effekte.

Bei anderen Stoffen - z. B. Calciumchlorid oder Glucose - ist nach Aqua dest.- Inkubation eine echte positive Chemotaxis zu sehen, d. h. in das Testmilieu wandern mehr Tiere ein als in das Vergleichsmilieu (s. Beispiele in Abb. 6A und B).

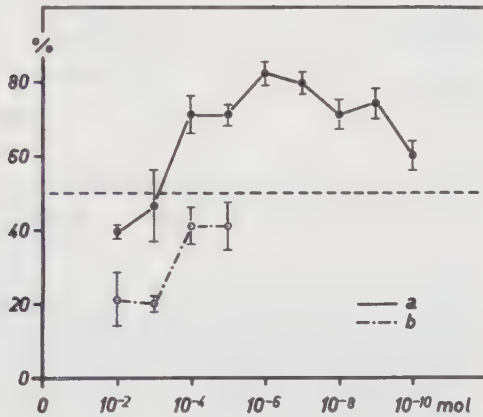


Abb. 6A: Die Chemotaxis von Paramecien (in Proz.; Ordinate) gegenüber verschiedenen Calciumionen - Konzentrationen (mol/l; Abszisse) in Abhängigkeit von der Vorbehandlung
a. Paramecien 5 h in Aqua dest. vorinkubiert
b. Paramecien 24 h in Aqua dest. vorinkubiert

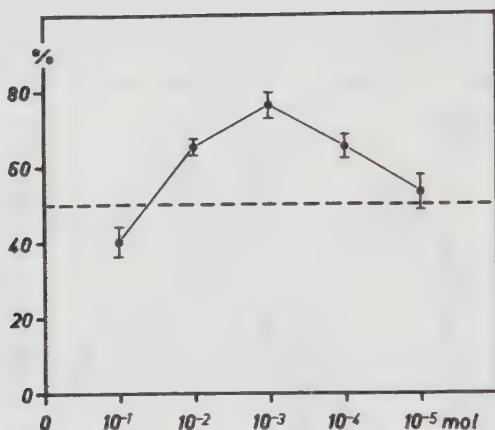


Abb. 6B Die Chemotaxis von Paramecien (in Proz.; Ordinate) gegenüber verschiedenen Glucosekonzentrationen (mol/l; Abszisse) in Abhängigkeit von der Vorbehandlung
Testmilieu: Aqua dest.
Paramecien 5 h in Aqua dest. vorinkubiert

Nach 24 h Aqua dest.- Vorinkubation zeigt sich in den untersuchten Glucosekonzentrationen kein chemotaktischer Effekt.

Außerdem finden sich nach 24 h Aqua dest.- Vorinkubation viele Paramecien unbeweglich am Tropfenrand (s. Abb. 7), während die Schwimgeschwindigkeit der anderen erhöht ist. Bei einem Großteil dieser Tiere sind Drehbewegungen zu beobachten.

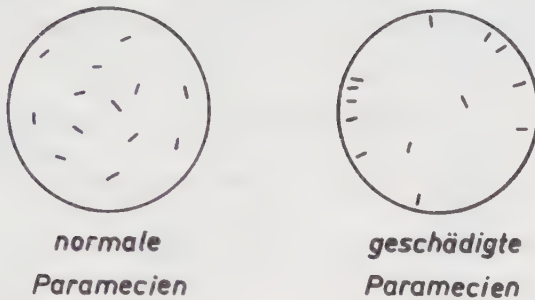


Abb. 7

2. Kulturmilieu

Läßt man eine unwirksame Konzentration eines Stoffes oder einer Vergleichslösung auf Paramecien wirken, die aus dem Kulturgefäß ohne Vorbehandlung herauspipettiert werden, so fällt auf, daß nur wenige Tiere aus dem zugegebenen Tropfen auswandern. Werden die Protozoen von ihren ausgeschiedenen Stoffwechselprodukten befreit (s.S. 6 Vorbehandlung), dann nimmt der Prozentsatz der Tiere, die aus dem zugegebenen Tropfen auswandern, erheblich zu.

3. pH - Abhängigkeit

Wie untenstehende Kurven (s.Abb. 8) zeigen, spielt der Einfluß des pH - Wertes innerhalb der Grenzen von 5,5 bis 6,8 eine unbedeutende Rolle.

In Abb. 8 ist die Streuung so gering, daß ich zugunsten der besseren Übersicht auf ein Eintragen der Meßpunkte mit den dazugehörigen mittleren Abweichungen der Mittelwerte verzichtet habe.

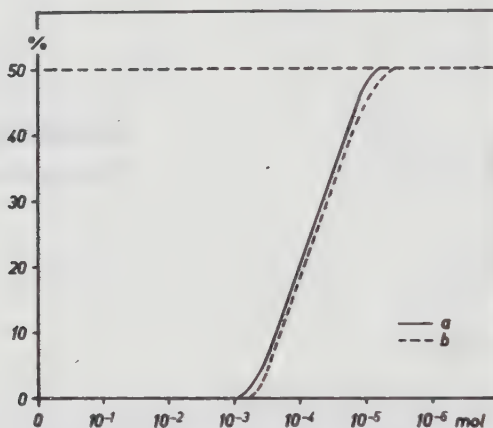


Abb. 8 Die Chemotaxis von Paramecien (in Proz.; Ordinate) gegenüber Phentolaminhydrochlorid in Abhängigkeit von verschiedenen pH - Werten Paramecien nach S. 6 vorbehandelt Testmilieu: Heuinfustyrodelösung (3%)
a. pH - Wert der Test- und Vergleichslösung: 6,8
b. pH - Wert der Test- und Vergleichslösung: 5,5

4. Einfluß von Erschütterungen auf die Meßwerte

Das Auswaschen der Kultur mit Tyrodelösung (3%), besser Heuinfustyrodelösung (3%), die durch ein bakterientrennendes Filter gegeben wird, darf nicht unter Schütteln erfolgen, da dies bei sofort anschließendem Versuchsbeginn zur Änderung der Reaktion führen kann. Auch ein Rotieren des Kolbens, der die aufbereiteten Tiere enthält, vor der jeweiligen Entnahme führt zu solchen Störeffekten (s. Abb. 9).

Bei den späteren Versuchen werden deshalb hohe Gefäße verwendet, aus denen nur negativ geotaktische Tiere, d. h. nahe der Oberfläche befindliche, herauspipettiert werden. Weiterhin ist eine Wartezeit von 1 bis 2 Stunden notwendig, um die durch die Vorbehandlung hervorgerufenen Schwankungen zu erniedrigen.

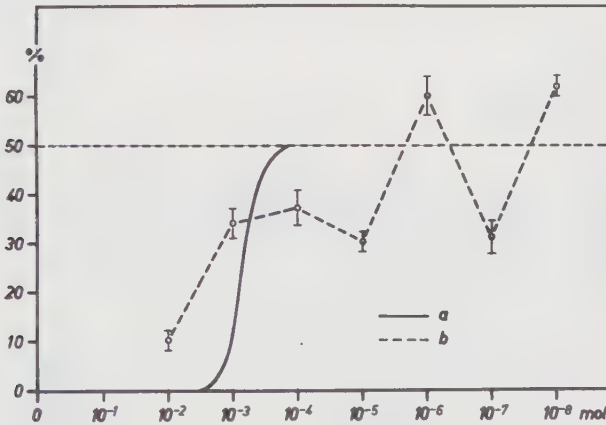


Abb. 9 Die Chemotaxis von Paramecien (in Proz.; Ordinate) gegenüber verschiedenen Pilocarpinkonzentrationen (mol/l; Abszisse) in Abhängigkeit von der Vorbehandlung

Testmilieu: Tyrodelösung (3%)

a. Paramecien nach S. 6 vorbehandelt

b. Während der Aufbereitung und der anschließenden Entnahme wurde geschüttelt. Keine Wartezeit vor der Aufbereitung. Bei Bestimmung der molaren Konzentration von 10^{-7} und 10^{-5} erfolgte Entnahme aus dem Kolben

II. Dosis - Wirkungskurven ⁺

1. Ganglionär angreifende Stoffe

a. Hexamethonium

b. Pentamethonium

Menge mg in 10 ml bei	Hexamethonium	Pentamethonium
$5 \cdot 10^{-2}$ molar	228,0	221,0
$5 \cdot 10^{-3}$ "	22,8	22,1
$5 \cdot 10^{-4}$ "	2,28	2,21
Chemotaxis in % bei		
$5 \cdot 10^{-2}$ molar	-	-
$5 \cdot 10^{-3}$ "	26 ± 3	19 ± 2
$5 \cdot 10^{-4}$ "	45 ± 3	41 ± 2

Testmilieu: Heuinfustyrodelösung (3%)

Wirkungsbereich: 10^{-2} molar bis $5 \cdot 10^{-3}$ molar

Besonderheiten: keine

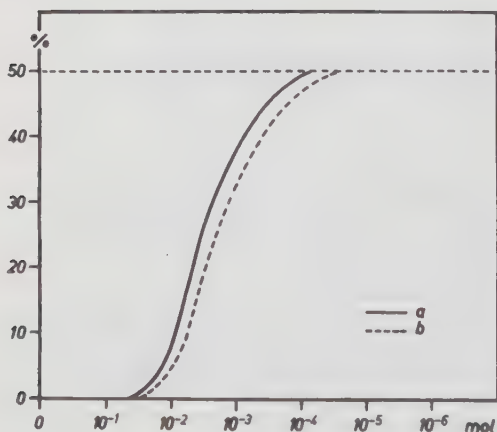


Abb. 10 Die Chemotaxis von Paramecien (in Proz.; Ordinate) gegenüber verschiedenen Hexamethonium- und Pentamethoniumkonzentrationen (mol/l; Abszisse) Paramecien nach S. 6 vorbehandelt Bestimmung der Chemotaxis nach S. 7 Testmilieu: Heuinfustyrodel. (3%) a. Hexamethonium b. Pentamethonium

⁺ In den Abb. 10 bis 18 ist die Streuung so gering, daß ich zugunsten der besseren Übersicht auf ein Eintragen der Meßpunkte mit den dazugehörigen mittleren Abweichungen der Mittelwerte verzichtet habe.

2. Antisymphotonika

	a. Phentolamin	b. DCI	c. DHE
Menge mg in 10 ml bei	Phentolamin	DCI	DHE
10^{-2} molar	29,9	28,3	75
10^{-3} "	2,99	2,83	7,5
10^{-4} "	0,299	0,283	0,75
10^{-5} "	0,0299	0,0283	0,075
Chemotaxis in % bei			
10^{-3} molar	-	-	-
10^{-4} "	26 ± 2	3 ± 1	-
10^{-5} "	41 ± 2	40 ± 3	33 ± 3

Testmilieu: Heuinfustyrodelösung (3%)

Wirkungsbereich: $5 \cdot 10^{-3}$ molar bis 10^{-5} molar

Besonderheiten: keine

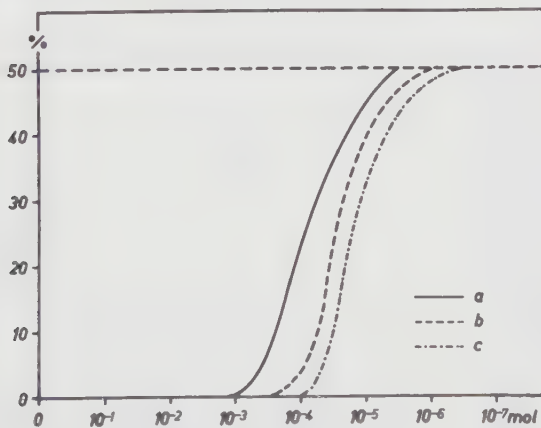


Abb. 11 Die Chemotaxis von Paramecien (in Proz.; Ordinate) gegenüber verschiedenen Phentolamin-, DCI- und DHE - Konzentrationen (mol/l; Abszisse) Bedingungen wie Abb. 10

- a. Phentolamin
- b. DCI
- c. DHE

3. Adrenerge Substanzen

a. Noradrenalin

b. Adrenalin

Menge

mg in 10 ml bei

Noradrenalin

Adrenalin

10^{-2} molar

16,9

18,3

10^{-3} "

1,69

1,83

10^{-4} "

0,169

0,183

10^{-5} "

0,0169

0,0183

Chemotaxis

in % bei

10^{-3} molar

15 ± 6

-

10^{-4} "

46 ± 3

21 ± 4

10^{-5} "

-

49 ± 3

Testmilieu: Heuinfuslösung (3%)

Wirkungsbereich: 10^{-3} molar bis 10^{-4} molar

Besonderheiten: bei Noradrenalin beobachtet man nach 5 Sek.
für die Dauer von 25 Sek. Rückwärtsschwimmen

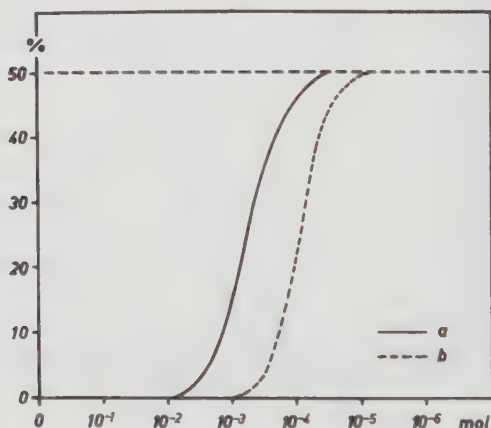


Abb. 12 Die Chemotaxis von Paramecien (in Proz.; Ordinate) gegenüber verschiedenen Noradrenalin- und Adrenalin-konzentrationen (mol/l; Abszisse) Bedingungen wie Abb. 10
a. Noradrenalin
b. Adrenalin

4. Parasympatholytika

	a. Homatropin	b. Atropin	c. Atropinmethylnitrat
Menge mg in 10 ml bei	Hom- atropin	Atropin	Atropin- methylnitrat
10^{-2} molar	35,6	69,5	36,6
10^{-3} "	3,56	6,95	3,66
10^{-4} "	0,356	0,695	0,366
Chemotaxis in % bei			
10^{-2} molar	4 ± 2	1 ± 1	2 ± 1
10^{-3} "	34 ± 3	10 ± 2	12 ± 4
10^{-4} "	50 ± 3	46 ± 2	43 ± 3

Testmilieu: Heuinfus-tyrodelösung (3%)

Wirkungsbereich: 10^{-2} molar bis $5 \cdot 10^{-3}$ molar

Besonderheiten: Homatropin, Atropin und Atropinmethylnitrat zeigen bei 10^{-2} molar kohärente Tropfen

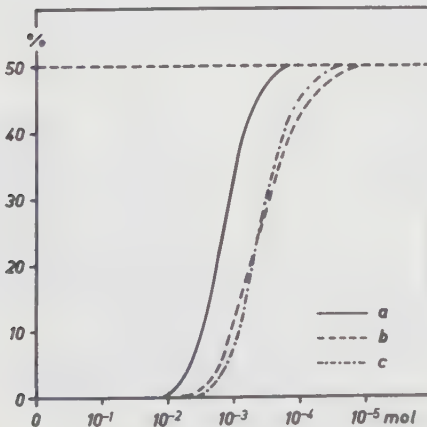


Abb. 13 Die Chemo-
taxis von Parameci-
en (in Proz.; Ordina-
te) gegenüber ver-
schiedenen Homatro-
pin-, Atropin- und
Atropinmethylnitrat-
konzentrationen
(mol/l; Abszisse)
Bedingungen wie
Abb. 10
a. Homatropin
b. Atropin
c. Atropinmethylni-
trat

5. Parasympathomimetika

a. Cholin

b. Carbacholin

c. Acetylcholin

d. Pilocarpin

Menge mg in 10 ml bei	Cholin	Carba- cholin	Acetyl- cholin	Pilo- carpin
10^{-1} molar	140,0	200,0	182,0	267,0
10^{-2} "	14,0	20,0	18,2	26,7
10^{-3} "	1,4	2,0	1,82	2,67
10^{-4} "	0,14	0,2	0,182	0,267

Chemotaxis
in % bei

10^{-1} molar	55 ± 5	-	-	-
$5 \cdot 10^{-2}$ "	-	-	2 ± 1	-
10^{-2} "	44 ± 2	60 ± 6	25 ± 2	-
10^{-3} "	-	54 ± 4	48 ± 1	11 ± 2
10^{-4} "	47 ± 3	47 ± 4	-	51 ± 2

Testmilieu: Heuinfustyrödelösung (3%)

Wirkungsbereich: Carbacholin und Cholin haben nahezu gleiche Schwellenwerte; Pilocarpin ist 10 bis 100 mal so wirksam wie Acetylcholin

Besonderheiten: keine

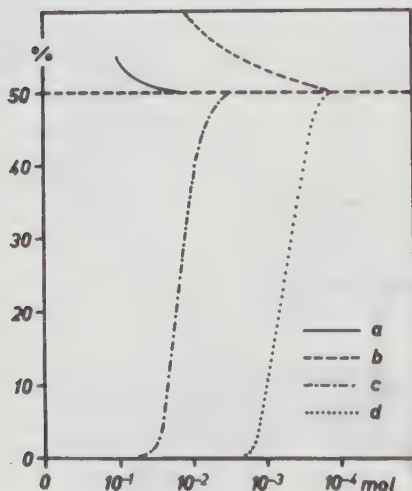


Abb. 14 Die Chemotaxis von Paramecien (in Proz.; Ordinate) gegenüber verschiedenen Cholin-, Carbacholin-, Acetylcholin- und Pilocarpinkonzentrationen (mol/l Abszisse) Bedingungen wie Abb. 10

a. Cholin
b. Carbacholin
c. Acetylcholin
d. Pilocarpin

6. Muskelrelaxantien

Menge mg in 10 ml bei	a. Decamethonium		b. Suxamethonium	
	c. Gallamintriäthyljodid		d. d - Tubocurarin	
	Deca- methonium	Suxa- methonium	Gallamintri- äthyljodid	Tubo- curarin
10^{-2} molar	-	36,2	69,0	77,6
$5 \cdot 10^{-3}$ "	25,6	-	-	-
10^{-3} "	-	3,62	6,9	7,76
$5 \cdot 10^{-4}$ "	2,56	-	-	-
10^{-4} "	-	0,362	0,69	0,776
10^{-5} "	-	-	0,069	0,0776
10^{-6} "	-	-	0,0069	0,00776
10^{-7} "	-	-	-	0,000776
10^{-8} "	-	-	-	0,0000776
10^{-9} "	-	-	-	0,00000776

Chemotaxis
in % bei

10^{-2} molar	-	-	-	-
$5 \cdot 10^{-3}$ "	6 ± 1	-	-	-
$5 \cdot 10^{-3}$ "	-	3 ± 1	-	-
$5 \cdot 10^{-4}$ "	40 ± 3	-	-	-
10^{-4} "	-	33 ± 3	3 ± 1	-
10^{-5} "	-	-	36 ± 3	-
10^{-6} "	-	-	49 ± 2	-
10^{-7} "	-	-	-	9 ± 1
10^{-8} "	-	-	-	36 ± 1
10^{-9} "	-	-	-	49 ± 3

Testmilieu: Heuinfustyrolösung (3%)

Wirkungsbereich:

Decamethonium: $5 \cdot 10^{-3}$ bis $5 \cdot 10^{-4}$ molar

Suxamethonium: 10^{-3} bis 10^{-4} molar

Gallamintriäthyljodid: 10^{-4} bis 10^{-5} molar

Tubocurarin: 10^{-7} bis $5 \cdot 10^{-8}$ molar

Besonderheiten: keine

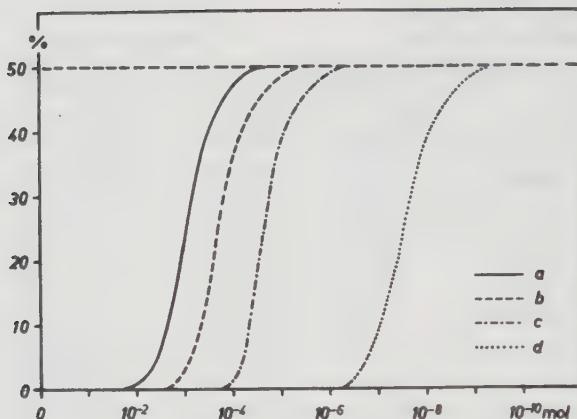


Abb. 15 Wie Chemotaxis von Paramecien (in Proz.; Ordinate) gegenüber verschiedenen Decamethonium-, Suxamethonium-, Gallamintriaethyljodid- und Tubocurarinkonzentrationen (mol/l; Abszisse) Bedingungen wie Abb. 10
a. Decamethonium
b. Suxamethonium
c. Gallamintriaethyljodid
d. d - Tubocurarin

7. Verschiedene nicht vegetativ wirksame Stoffe

a. Oberflächenaktive Stoffe

Laurylsulfat (s. Abb. 16)

Wirkungsbereich: $5 \cdot 10^{-4}$ bis $5 \cdot 10^{-5}$ molar

Besonderheiten: häufiges Rückwärtsschwimmen

n - Octanol

Bis 10^{-4} molar zeigt sich kein Effekt, höhere Konzentrationen sind infolge Ineinanderfließens der Tropfen nicht mehr möglich.

b. Zucker

Glucose und Saccharose

Selbst bei 10^{-2} molar ist kein Effekt zu beobachten.

Auch keine besonderen Bewegungen finden statt.

c. g - Strophanthin

Bis $5 \cdot 10^{-4}$ molar zeigt sich keine Beeinflussung der Chemotaxis. Bei dieser Konzentration verschwindet jedoch nach 3 bis 5 Min. die Motilität.

d. Procaïn

Wirkungsbereich: 10^{-2} bis $5 \cdot 10^{-3}$ molar

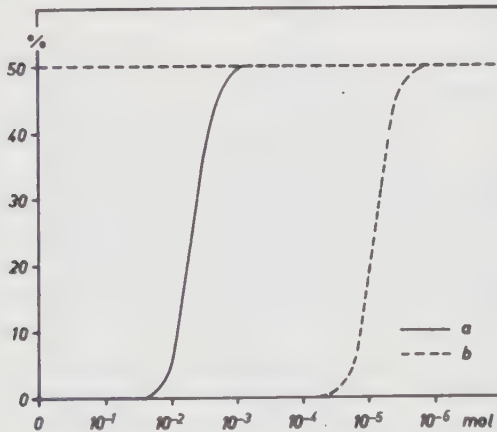


Abb. 16 Die Chemotaxis von Paramecien (in Proz.; Ordinate) gegenüber verschiedenen Procain- und laurylsulfatkonzentrationen (mol/l; Abszisse)
Bedingungen wie Abb. 10

a. Procain
b. Laurylsulfat

8. Tabelle der mittleren aequieffektiven Konzentrationen
der Teststoffe; deren Salzformen und Molekulargewichte

(Zur Auslösung einer Chemotaxis von 25%)

Teststoff	Salzform	Molekular- gewicht	Molare Kon- zentration
Acetylcholin	Chlorid	182	10^{-2}
Procain	Chlorid	260	$4 \cdot 10^{-2}$
Homatropin	Bromid	356	$5 \cdot 10^{-2}$
Hexamethonium	Jodid	456	$5 \cdot 10^{-3}$
Pentamethonium	Jodid	442	$7 \cdot 10^{-3}$
Decamethonium	Jodid	512	10^{-3}
Pilocarpin	Nitrat	267	$1,1 \cdot 10^{-3}$
Noradrenalin	als Base	169	$2 \cdot 10^{-3}$
Atropin	Sulfat	695	$5 \cdot 10^{-3}$
Atropin- methylnitrat	Nitrat	366	$5 \cdot 10^{-3}$
Suxamethonium	Chlorid	362	$8 \cdot 10^{-3}$
Phentolamin	Chlorid	299	10^{-4}
Adrenalin	Bitartrat	183	10^{-4}
DCI	Chlorid	283	$5 \cdot 10^{-4}$
DHE	Sulfat	727	$5 \cdot 10^{-4}$
Gallamin- triaethyljodid	Jodid	690	$6 \cdot 10^{-4}$
Laurylsulfat	Sulfat	266	$2 \cdot 10^{-5}$
Curarin	Chlorid	776	$5 \cdot 10^{-8}$

Tab. 1

III. Antagonistische Versuche

1. Versuche zum Nachweis sympathoider Strukturen

a. DHE - Adrenalin

Menge mg in 10 ml bei	DHE	Adrenalin
10^{-2} molar	75,0	18,3
10^{-3} "	7,5	1,83
10^{-4} "	0,75	0,183
10^{-5} "	0,075	0,0183
10^{-6} "	0,0075	0,00183

Chemotaxis
in % bei

10^{-2} molar	-
10^{-3} "	-
10^{-4} "	-
10^{-5} "	28 ± 2
10^{-6} "	48 ± 3

Testmilieu: Heuinfustyrolösung (3%)

Wirkungsänderung: Die gleichzeitige Zugabe von DHE und Adrenalin wirkt sich resistenzmindernd bzw. empfindlichkeitssteigernd aus (b). Aus dieser Versuchsanordnung läßt sich nicht auf Antagonismen schließen.

Besonderheiten: Bei einzelnen Tieren werden Rückwärtsbewegungen beobachtet.

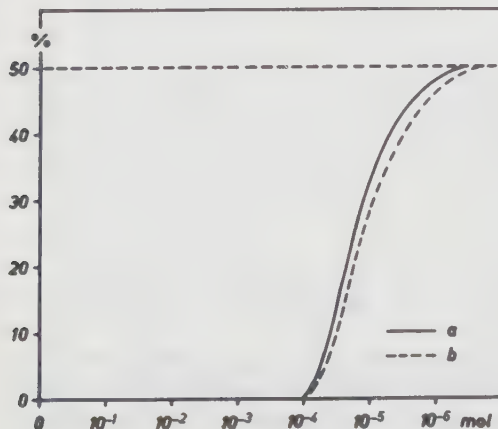


Abb. 17 Die Chemotaxis von Paramoecien (in Proz.; Ordinate) gegenüber einem DHE - Adrenalin - Gemisch verschiedener molarer Konzentrationen (mol/l; Abszisse) Versuchsanordnung nach Seite 7 ff. und 11 ff.
a. DHE
b. DHE - Adrenalin

b. DCI - Adrenalin

Menge mg in 10 ml bei	DCI	Adrenalin
10^{-2} molar	28,2	18,3
10^{-3} "	2,82	1,83
10^{-4} "	0,282	0,183
10^{-5} "	0,0282	0,0183
10^{-6} "	0,00282	0,00183

Chemotaxis

in % bei

10^{-2} molar	-
10^{-3} "	-
10^{-4} "	-
10^{-5} "	25 ± 3
10^{-6} "	49 ± 2

Testmilieu: Heuinfustyrödelösung (3%)

Wirkungsänderung: Wie gleichzeitige Zugabe von DCI und Adrenalin wirkt sich resistenzmindernd bzw. empfindlichkeitssteigernd aus (b). Aus dieser Versuchsanordnung läßt sich nicht auf Antagonismen schließen.

Besonderheiten: Bei einzelnen Tieren werden Rückwärtsbewegungen beobachtet.

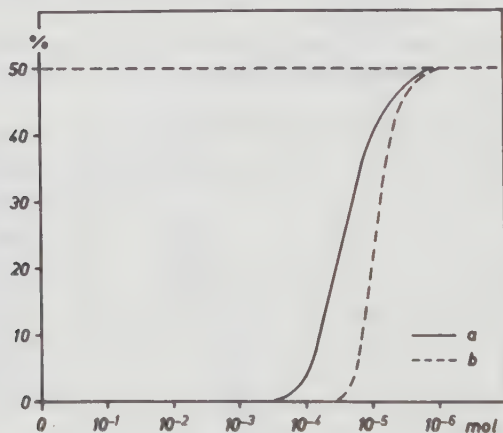


Abb. 18 Die Chemotaxis von Paramecien (in Proz.; Ordinate) gegenüber einem DCI - Adrenalin - Gemisch verschiedener molarer Konzentrationen (mol/l; Abszisse) Versuchsanordnung nach S. 7 ff. und 11 ff.

a. DCI

b. DCI - Adrenalin

2. Versuche zum Nachweis parasymphathoider Strukturen

a. Acetylcholin - Atropinmethylnitrat

Ein Acetylcholin - Atropinmethylnitrat - Gemisch in molarem Verhältnis 10:1 wird den unvorbehandelten Paramaecien angeboten.

Atropinmethylnitrat-Konzentration mol/l	Acetylcholin-Konzentration mol/l	Chemotaxis %
10^{-3}	10^{-2}	13 ± 2
10^{-4}	10^{-3}	49 ± 2

Eine schwache Resistenzsteigerung ist bei niederen Konzentrationen zu sehen.

Acetylcholin - Atropinmethylnitrat wird in molarem Verhältnis 100:1 angeboten.

Atropinmethylnitrat-Konzentration mol/l	Acetylcholin-Konzentration mol/l	Chemotaxis %
10^{-3}	10^{-1}	3 ± 2
10^{-4}	10^{-2}	39 ± 3
10^{-5}	10^{-6}	49 ± 2

Auch bei dieser Versuchsanordnung sind keine Antagonismen nachzuweisen. Die Tiere verhalten sich eher vermindert resistenzfähig (s. Abb. 19).

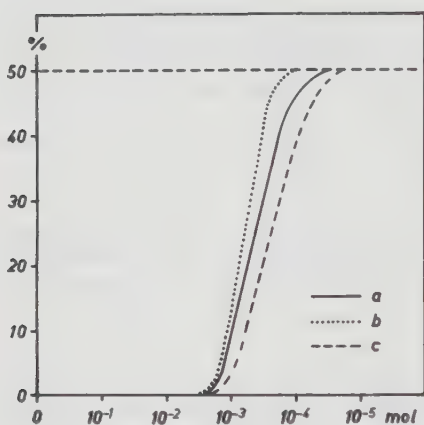


Abb. 19 Die Chemotaxis von Paramecien (in Proz.; Ordinate) gegenüber einem Acetylcholin - Atropinmethylnitrat-Gemisch 10:1 und 100:1 (mol/l Abszisse) Bedingungen wie Abb. 17
a. Atropinmethylnitrat
b. Acetylcholin - Atropinmethylnitrat 10:1
c. Acetylcholin - Atropinmethylnitrat 100:1

b. Acetylcholin - Atropinmethylnitrat, Acetylcholin vorinkubiert

Mit Acetylcholin in $5 \cdot 10^{-3}$ molarer Konzentration werden die Paramecien vorinkubiert und dann einer $5 \cdot 10^{-4}$ bzw. 10^{-3} molaren Atropinmethylnitratkonzentration ausgesetzt und in Abhängigkeit von der Zeit die veränderte Chemotaxis bestimmt (s. Abb. 20 und 21).

Chemotaxis in Proz. bei einer Atropinmethylnitratkonzentration von $5 \cdot 10^{-4}$ molar in Zeitabhängigkeit:

15 Min.	25 Min.	35 Min.	45 Min.
27 ± 12	40 ± 7	47 ± 5	51 ± 1

Während nach 15 Min. Inkubation keine antagonistische Wirkung festgestellt werden kann, erfolgt bei längerdauernder Vorinkubation eine allmähliche Empfindlichkeitsabnahme.

Nach etwa 40 Min. Acetylcholin - Inkubation verursacht eine Atropinmethylnitratkonzentration von $5 \cdot 10^{-4}$ molar keine chemotaktische Reaktion mehr.

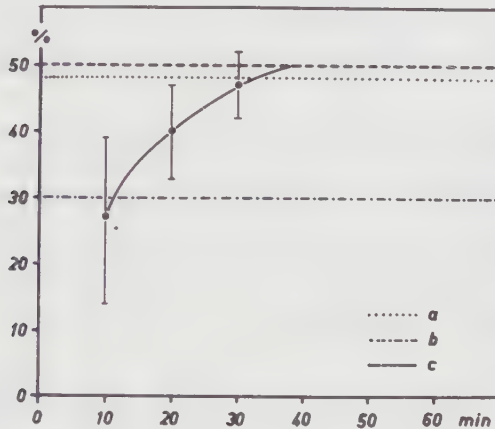


Abb. 20 Die Chemotaxis von Paramecien (in Proz.; Ordinate) gegenüber $5 \cdot 10^{-4}$ molarer Atropinmethylnitratkonzentration nach Vorinkubation mit $5 \cdot 10^{-3}$ molarer AcetylcholinKonzentration in Zeitabhängigkeit (Abszisse: Zeit in Min.)
 Paramecien nach S. 6 vorbehandelt
 Bestimmung der Chemotaxis nach S. 7
 Testmilieu: Heuinfustyrodelösung (3%)
 a. Chemotaxis (3 Min.) bei $5 \cdot 10^{-3}$ molar Acetylcholin
 b. Chemotaxis (3 Min.) bei $5 \cdot 10^{-4}$ molar Atropinmethylnitrat
 c. veränderte Chemotaxis nach Acetylcholin - Vorinkubation

Chemotaxis in Proz. bei einer Atropinmethylnitratkonzentration von 10^{-3} molar in Zeitabhängigkeit:

10 Min.	20 Min.	30 Min.	40 Min.	50 Min.	60 Min.
18 ± 4	24 ± 8	38 ± 4	43 ± 4	38 ± 5	30 ± 6

Wird ein entsprechender Versuch mit Atropinmethylnitrat 10^{-3} molar durchgeführt, so ist prinzipiell eine gleichartige Änderung der Reaktion in Abhängigkeit von der Acetylcholin - Vorinkubation festzustellen (s. Abb. 21) wie bei der niedrigeren Konzentration. Die Chemotaxis gegenüber Atropinmethylnitrat wird hierbei ebenfalls nach 40 Min. nahezu aufgehoben. Nach dieser Zeit kommt es jedoch wieder zu einer allmählichen Empfindlichkeitssteigerung wie nach Aqua dest.- Vorinkubation.

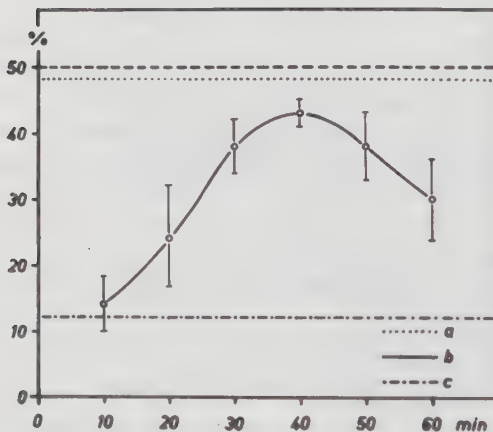


Abb. 21 Die Chemotaxis von Paramecien (in Proz.; Ordinate) gegenüber 10^{-3} molarer Atropinmethylnitratkonzentration nach Vorinkubation mit $5 \cdot 10^{-3}$ molarer Acetylcholin-konzentration in Zeitabhängigkeit (Abszisse: Zeit in Min.) Bedingungen wie Abb. 20

Bemerkung: Nach 40 Min. verminderte Auswanderungszahl aus dem Paramecium-Tropfen

- Chemotaxis (3 Min.) bei $5 \cdot 10^{-3}$ molar Acetylcholin
- veränderte Chemotaxis nach Acetylcholin - Vorinkubation
- Chemotaxis (3 Min.) bei 10^{-3} molar Atropinmethylnitrat

c. Carbacholin - Atropinmethylnitrat

In einer weiteren Versuchsreihe werden (wie im vorhergehenden Abschnitt beschrieben) die Paramecien mit Carbacholin ($5 \cdot 10^{-4}$ und 10^{-3} molar) vorinkubiert und nach verschiedenen Zeiten die chemotaktischen Reaktionen gegen Atropinmethylnitrat (10^{-3} molar) bestimmt (s. Abb. 22).

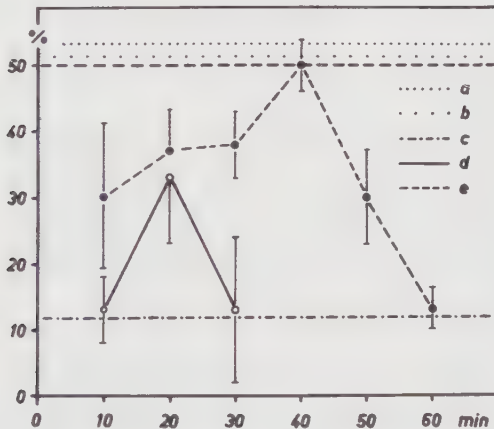


Abb. 22 Die Chemotaxis von Paramecien (in Proz.; Ordinate) gegenüber 10^{-3} molarer Atropinmethylnitratkonzentration nach Vorinkubation mit $5 \cdot 10^{-4}$ und 10^{-3} molarer Carbacholinkonzentration in Zeitabhängigkeit (Abszisse: Zeit in Min.) Bedingungen wie Abb. 20

Bemerkung: Randständigkeit und verminderte Auswanderungszahl der Tiere in den Kurven d und e

- a. Chemotaxis (3 Min.) bei Carbacholin 10^{-3} molar
- b. Chemotaxis (3 Min.) bei Carbacholin $5 \cdot 10^{-4}$ molar
- c. Chemotaxis (3 Min.) bei Atropinmethylnitrat 10^{-3} molar
- d. veränderte Chemotaxis nach 10^{-3} molarer Carbacholin - Vorinkubation
- e. veränderte Chemotaxis nach $5 \cdot 10^{-4}$ molarer Carbacholin - Vorinkubation

Bestimmung gegen Atropinmethylnitrat in 10^{-3} molarer Konzentration:

Vorinkubation mit $5 \cdot 10^{-4}$ molarer Carbacholinkonzentration

10 Min.	20 Min.	30 Min.	40 Min.	50 Min.	60 Min.
29 ± 13	37 ± 6	38 ± 5	50 ± 4	30 ± 7	13 ± 3

Vorinkubation mit 10^{-3} molarer Carbacholinkonzentration

10 Min.	20 Min.	30 Min.	40 Min.	50 Min.	60 Min.
13 ± 7	34 ± 10	13 ± 11	-	-	-

Hierbei zeigt sich deutlich, daß sonst "unwirksame" Konzentrationen (d. h. bei Messung der Chemotaxis nach 3 Min.) bei der längeren Inkubationsdauer zur allmählichen Empfindlichkeitssteigerung führen, d. h. eine bestimmte Konzentration zeigt einen stärkeren chemotaktischen Effekt. Bei Carbacholin $5 \cdot 10^{-4}$ molar tritt dieser Effekt nach 45 Min., bei 10^{-3} molar schon nach 20 Min. auf, da hierbei die fünffache Konzentration auf die Paramecien einwirkt.

Alle Tiere, die in die Testlösung schwimmen, führen starke Drehbewegungen aus und zeigen anfangs Rückwärtschwimmen. Diese Versuchsreihe ist daher in Bezug auf Antagonismen nicht auswertbar.

3. Andere Versuche

Weder eine Vorinkubation mit Pilocarpin ($5 \cdot 10^{-4}$ molar) gegen Atropinmethylnitrat ($5 \cdot 10^{-4}$ molar) noch eine Erhöhung der Calciumionen - Konzentration (5- bzw. 10fach) gegenüber der Kulturtyrodelösung zeigt einen resistenzsteigernden Effekt.

Nach Acetylcholin - Vorinkubation ($5 \cdot 10^{-3}$ molar) gegen Curarin (10^{-8} molar), Hexamethonium ($5 \cdot 10^{-3}$ molar) und Pentamethonium ($5 \cdot 10^{-3}$ molar) zeigt sich ebenfalls kein Empfindlichkeitsabfall.

IV. Messung der Oberflächenspannung

Um zu beurteilen, ob die beobachteten Effekte auf der veränderten Oberflächenspannung beruhen, werden nach der auf Seite 13 beschriebenen Methode die Oberflächenspannungen verschiedener Lösungen und Stoffe bestimmt (s.Tab.2). Es wird jeweils eine Messung vorgenommen. Als Standardlösungen dienen Aqua dest. und Aceton. Eine Beziehung zur chemotaktischen Wirksamkeit zeigt sich nicht (s.Tab. 1 und 2).

Testsubstanz	Verdünnung	$h-1$	δ	Literaturwerte
Aqua dest.	-	12,2	61,6	62,75
Aceton	-	4,4	22,2	23,3
Laurylsulfat	10^{-2}	7,8	39,4	
Laurylsulfat	10^{-3}	11,5	58,0	
Pilocarpin	10^{-2}	11,5	58,0	
Curarin	$3,5 \cdot 10^{-3}$	11,5	58,0	
Suxamethonium	$1,38 \cdot 10^{-2}$	11,9	59,5	
Tyrodellösung	3%	12,0	60,0	
Laurylsulfat	10^{-4}	12,2	61,5	
DHE	$3,33 \cdot 10^{-3}$	12,2	61,5	
Curarin	$3,5 \cdot 10^{-5}$	12,2	61,5	
DCI	10^{-2}	12,2	61,5	
Acetylcholin	$5 \cdot 10^{-2}$	12,2	61,5	
Adrenalin	10^{-3}	12,3	62,0	

Tab. 2

D. Diskussion

1. Kulturmilieu

Aus den mit Aqua dest. und physiologischem Milieu (3,1ige Heuinfustyrodelösung) erhaltenen Kurven (s.S. 15-19) ergibt sich eine beträchtliche Änderung der Empfindlichkeit und der Reaktionen gegen Testsubstanzen in Abhängigkeit vom Kulturmilieu. Unter anderem resultiert daraus die Forderung, daß die Protozoen auch während des Versuchs mit allen physiologisch wichtigen Stoffen (10) versorgt werden, um eine optimale Reaktion zu ermöglichen. Nur dann ergibt die Untersuchung der Paramecien reproduzierbare Ergebnisse. Die Frage nach der Konzentration dieser Bestandteile ist sekundär; es ist nur erforderlich, daß die Relation der Stoffe im Bereich bestimmter Konzentrationsverhältnisse liegt. W. LUDWIG hat gezeigt (14), daß sich Pantoffeltierchen allmählich bis zum Zwanzigfachen bzw. auf ein Zehntel einer für Paramecien isotonischen Konzentration adaptieren lassen. Hierfür spricht auch das Vorkommen in der Natur bei recht verschiedenen Konzentrationen der Milieubestandteile.

2. Ausscheidungsprodukte

Das Hauptabbauprodukt der Paramecien ist neben CO_2 (15) der Harnstoff (24). Werden aus einer alten Kultur (9 und mehr Tage) stammende Tiere mit einer mit Bakterien angereicherten Heuinfustyrodelösung versetzt, so bemerkt man nach einigen Minuten, daß die Motilität zunimmt und nach einigen

Tagen eine gesteigerte Teilungsfrequenz einsetzt. Dieses Verhalten ist nach LEATHERBY (24) auf die Beseitigung des nach 9 Tagen angehäuften Parnstoffes zurückzuführen. Außerdem ist an das verbesserte Nährsubstrat in Form der Bakterien zu denken.

3. Alter des Klons

WOODRUFF (27) konnte zeigen, daß ein Klon nach 22 Jahren Kultur (13000 Generationen) die gleichen Untersuchungsergebnisse zu liefern vermag wie am Anfang. Der von mir verwendete Klon hatte nur ein Alter von 12 Monaten (600 Generationen).

4. Kulturalter

Die verwendeten Tiere stammen aus Kulturen, deren Alter nach Überimpfung nicht mehr als 7 Tage beträgt, da die Schädigung nach dieser Zeit (s.S.41 - Ausscheidungsprodukte) stark zunimmt. Eine Angabe des Kulturalters fehlt in den meisten Publikationen.

5. Negative Geotaxis

Das Phänomen der negativen Geotaxis ist temperaturabhängig (2). Unterhalb von 15° C ist keine negative Geotaxis mehr zu beobachten. UBRIG (23), GROBICKA und MACILEWKA (23) wiesen nach, daß negativ geotaktische Tiere besonders zum Versuch geeignet sind. Deshalb werden für die eigenen Versuche nur derartige Tiere verwendet.

6. Schwankungen der Meßwerte und Streuungen

Die mittleren Fehler der Mittelwerte meiner Kurven betragen bis zu 10% (frühere Arbeiten bis zu 20% (4)). Die Hauptursache dürfte auf methodische Fehler bei der Auszählung zurückzuführen sein. Liegt die Zahl der aus dem Parameciantropfen ausgewanderten Tiere in jedem Versuch unter 20 (in 10 Versuchen unter 200), so nimmt die Streuung bei der einheitlich begrenzten Zahl von 10 Versuchen zu (s. Abb. 23).

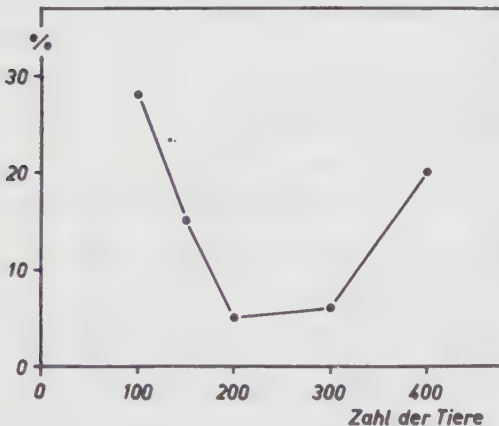


Abb. 23 Die prozentuale Größe des mittleren Fehlers des Mittelwertes (Ordinate) in Abhängigkeit von der Anzahl der ausgewanderten Tiere (Abszisse) aus 10 Einzelversuchen

Oberhalb von 30 Tiere (in 10 Versuchen über 300) nimmt jedoch ebenfalls die Zählgenauigkeit ab. Da sich die auf der Oberfläche der paramecienhaltigen Flüssigkeit befindliche Tierzahl ändert, ist eine immer gleichgroße Protozoenzahl im zugegebenen Tropfen schwierig zu erreichen. Das Optimum liegt somit bei 20 bis 30 Tieren im Einzelversuch.

Als Ursache der Streuung in Paramecienversuchen ist noch zu berücksichtigen, daß - wie W. LUDWIG (14) zeigte - nur 90% der Tiere gleichartig reagieren. LUDWIG führte das veränderte Verhalten der restlichen 10% auf Vorgänge der Teilungsphase zurück.

Es stellt sich die Frage, wie die zum Teil beträchtlichen Abweichungen (bis zu 20% (4)) in den bisherigen Arbeiten über chemotaktische Reaktionen von Paramecien (4;8;12; 18;20) zu erklären sind. Wie die vierundzwanzigstündige Vorbehandlung mit Aqua dest. zeigt, sind die Abweichungen (s.Abb. 4 und 5) um vieles größer als bei einer Verwendung von Tieren in physiologischem Milieu. Deshalb ist bei Arbeiten mit Aqua dest. die Empfindlichkeit der Einzeltiere sehr variabel. Die Hauptursache der Schwankungen ist jedoch ein weitgehender Konzentrationsausgleich zwischen Test- bzw. Vergleichstropfen und dem Parameciantropfen, der in der früheren Versuchsanordnung nach 3 Min. eingetreten ist. Den Beweis dafür konnte ich leicht mit verschiedenfarbigen Lösungen (Tinte und Aqua dest.) erbringen (s.Abb. 24). Die Messungen nach der früheren Methode mußten deshalb sehr stark variable Werte ergeben. Aus diesem Grund bevorzugte ich in meinen Versuchen länglich ausgezogene Tropfen.

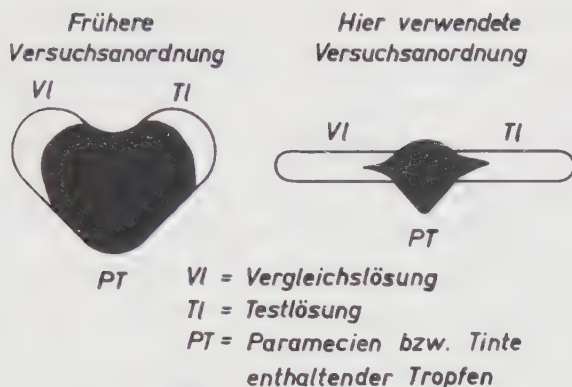


Abb. 24 Grenzschichten
nach 3 Min. Inkubation

7. Molarität der Verdünnungen

Frühere Arbeiten zeigen eine Chemotaxis bis zu einer Verdünnung von 10^{-17} molar (4;8;12;18;20). Diese Empfindlichkeit konnte von mir unter den verbesserten Bedingungen nicht mehr gefunden werden. Von den jetzt untersuchten Stoffen ist Curarin mit einer mittleren effektiven Konzentration von $5 \cdot 10^{-8}$ molar am wirksamsten.

Um eine Vorstellung von der Verdünnung 10^{-17} molar, die in den früheren Arbeiten auf Chemotaxiswirksamkeit untersucht wurde, zu bekommen, bringe ich untenstehend ein Rechenbeispiel. Nach Berechnung von FÖRSTER (4) befinden sich bei 10^{-17} molarer Lösung in 1 Tropfen 300 Moleküle Wirk-

stoff. Nach Loschmidt sind in einer molaren Lösung in:

$$1 \text{ Liter} = 6 \cdot 10^{23} \text{ Moleküle}$$

$$10 \text{ ml} = 6 \cdot 10^{21} \text{ "}$$

$$0,050 \text{ ml} \approx 1 \text{ Tropfen} \approx 50 \text{ mm}^3 = 3 \cdot 10^{19} \text{ "}$$

$$\text{Bei } 10^{-17} \text{ molarer Verdünnung} = \frac{3 \cdot 10^{19}}{10^{17}} = 300 \text{ Moleküle}$$

$$\text{In } 1 \text{ mm}^3 \text{ sind bei } 10^{-17} \text{ molar} = \frac{300}{50} = 6 \text{ Moleküle}$$

Ein durchschnittlich großes Paramecium hat nach FORTNER
(6) ein Volumen von:

$$V = \frac{2}{3} \cdot \pi \cdot m \cdot b^2$$

$$m = \text{Länge in mm} = 0,2$$

$$b = \text{Breite in mm} = 0,05$$

$$= \frac{2 \cdot 0,2 \cdot \pi \cdot 0,005^2}{3}$$

$$= \frac{10^{-3} \cdot \pi}{3} \approx 0,001 = \frac{1}{1000} \text{ mm}^3$$

Da nur 6 Moleküle Wirkstoff in 1 mm^3 vorhanden sind, würde ein Paramecium, das sich 1 mm/sec (17) vorwärts bewegt, nur in relativ großen Zeitabständen auf "Wirkstoffmoleküle" treffen.

Deshalb dürften die früheren Beobachtungen möglicherweise durch Ungenauigkeiten in der Versuchsanordnung und in dem methodischen Vorgehen (s. oben) vorgetäuscht worden sein. In den eigenen Versuchen konnten höchstens bis zu $5 \cdot 10^{-8}$ molar (Curarin) noch Effekte festgestellt werden.

8. Form der Kurven

Wie aus den abgebildeten Kurven (Abb. 10-15) ersichtlich, zeigt die dosisabhängige chemotaktische Kurve die Form einer normalen Dosis - Wirkungskurve mit asymptotisch auslaufenden maximalen und minimalen Schenkeln. Bei der Bestimmung der Grenzwerte ist es leicht, die unwirksame Konzentration im optimalen Milieu zu ermitteln, denn die Tiere reagieren bei einer Grenzsicht immer mit einer Abwehrreaktion, wie sie von GALIANO (7) beschrieben wurde. Diese Reaktion bleibt in unwirksamer Konzentration aus.

Bei starken effektiven Konzentrationen besitzt der Kurvenanteil ebenfalls asymptotischen Charakter.

Die maximalen mittleren Fehler treten bei einer Chemotaxis von 25% auf, wenn beispielsweise von 20 ausgewanderten Tieren 5 in die Testlösung und 15 in die Vergleichslösung wandern. (Dies entspricht dem ED_{50} - Punkt einer üblichen Dosis - Wirkungskurve). Es treten hier Streuungen bis zu 10% auf.

9. Beobachtete Bewegungen

Die bei verschiedenen Bestimmungen beobachteten reversiblen Rückwärtsbewegungen (s.S. 24, 31 und 32) könnten als eine spezifische momentane Beeinflussung des hypothetischen "neurovegetativen Zentrums", das von R. WICHTERMANN (26) beschrieben wurde, aufgefaßt werden. Dieses Rückwärtesschwimmen ist nicht mit der physio-

logischen Fluchtreaktion zu verwechseln (7;13).

Die beobachteten Drehbewegungen (s.S. 18) und die anschließende Bewegungslosigkeit mit Randständigkeit im Tropfen - bei langer Aqua dest.- Inkubation (s.S.18 und Abb. 7) - sind möglicherweise auf eine starke Membranschädigung zurückzuführen (2).

10. Schädigung während der Versuche

Die verminderte Auswanderungszahl aus den mit Carbacholin inkubierten Tropfen (antagonistische Versuchsgruppe, s.S. 38) dürfte auf einer verminderten Resistenz beruhen, zumal die Chemotaxis auch hier in Zeitabhängigkeit abnimmt.

11. Schwimmgeschwindigkeit

Ein Paramecium hat immer das Bestreben, seine physiologische Schwimmgeschwindigkeit beizubehalten (22).

Bei einigen Versuchen (s.S. 15 ff.) wurden von der Norm (1 mm/sec (17)) abweichende Schwimmgeschwindigkeiten beobachtet. Diese ist nicht nur von der Temperatur (2), sondern in starkem Maße auch vom Alter der Kultur und von der Osmolarität (6) des Milieus abhängig. Die Schwimmgeschwindigkeit war in Aqua dest. am höchsten. Dies stimmt mit den Befunden LOZLER's (2) überein. Die dabei gleichzeitig beobachtete Randständigkeit (s.Abb. 7) läßt sich auf einen Verlust der Außenladung (2) zurückführen. SERAVIN (22) macht eine Membranschädigung für hohe Schwimmgeschwindigkeit verantwortlich.

12. Penetration

Die Messung der Chemotaxis nach 3 Min. läßt unberücksichtigt, daß es sicherlich unter den untersuchten Stoffen einige gibt, die zwar sehr toxisch wirken, aber eine größere Verweildauer als 3 Min. benötigen, um die Membran zu passieren. Dies zeigen sehr deutlich Inkubationskurven mit Carbacholin (s. Abb. 22), wobei die Tiere nach 10 bis 20 Minuten zum Teil abgestorben waren. Die Konzentrations - Wirkungskurve der Chemotaxis (nach 3 Min.) hingegen zeigte keinerlei Effekt.

13. pH - Bereich

Der pH - Wert spielt innerhalb bestimmter Grenzen (5,5 - 7,0) eine untergeordnete Rolle, wie aus den beiden Kurven (s.S. 20) hervorgeht und wie S. DRYL (3) bereits nachgewiesen hat (s. Abb. 25).

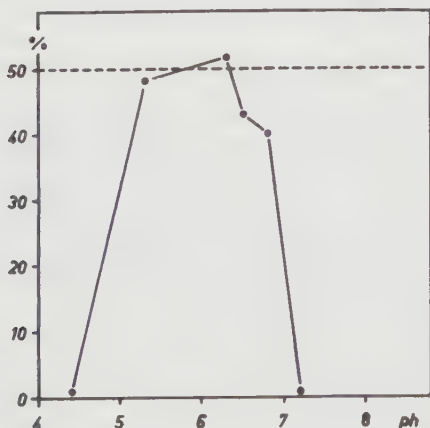


Abb. 25
Abhängigkeit der
Chemotaxis (in
Proz.; Ordinate)
vom pH - Wert des
+estmilieus (Abs-
zisse) nach DRYL
modifiziert

14. Antagonistische Versuche

Bei den Versuchen zum Nachweis parasymphathoider Strukturen (s.S. 33) fällt auf, welche hohe Konzentrationen von Atropinmethylnitrat ($5 \cdot 10^{-4}$ und 10^{-3} molar) nach Vorinkubation mit Acetylcholin ($5 \cdot 10^{-3}$ molar) vertragen werden (s. Abb. 19 und 20). Dabei zeigt sich, daß nach etwa 40 Min. Acetylcholin - Vorinkubation gegen eine $5 \cdot 10^{-4}$ molare Atropinmethylnitratkonzentration keine und gegen eine 10^{-3} molare Atropinmethylnitratkonzentration fast keine chemotaktische Reaktion mehr zu beobachten ist. Es bleibt die Frage, ob hier ein Antagonismus der beiden Substanzen vorliegt, oder ob die verbesserte Verträglichkeit lediglich auf einen membranabdichtenden Faktor zurückzuführen ist, wie W. LUDWIG mit höheren Konzentrationen nachweisen konnte (14).

15. Schlußfolgerung

Eine eindeutige Erklärung der beobachteten chemotaktischen Effekte verschiedener Pharmaka bei Paramecien ist nicht möglich.

Die Oberflächenaktivitäten sind - wie aus Tabelle 2, S. 40 hervorgeht - sicher ein untergeordneter Faktor der Chemotaxis.

Molekulargewicht und Salzformen der Testsubstanzen konnten ebenfalls nicht für die unterschiedlichen Empfindlichkeiten verantwortlich gemacht werden (s. Tab. 1).

Unter all den gezeigten Befunden fällt die hohe Wirksamkeit von Curarin auf ($5 \cdot 10^{-8}$ molar). Dies ist der einzige unter den Teststoffen, dessen Molekülgruppen über keine freie Drehbarkeit verfügen. Dadurch besitzt Curarin einen fixierten Moleküldurchmesser. Es wäre zu untersuchen, ob Stoffe mit völlig anderem Wirkungsmechanismus und anderer Strukturformel, jedoch entsprechend starrem System, ähnliche Empfindlichkeiten zeigen. Außerdem wäre an eine besonders hohe Affinität von Curarin zu denken.

Eine Bestimmung des maximal möglichen Moleküldurchmessers aller untersuchten Stoffe wäre evtl. aufschlußreich. Diese verfügen, mit Ausnahme des Curarins, über freie Drehbarkeit im Molekül, sodaß wahrscheinlich nur ein Bruchteil im maximal möglichen Moleküldurchmesser vorliegt. Wenn dies eine Rolle spielt, würde die Bestimmung des quantitativen Verhältnisses der verschiedenen Zustandsformen weiterführen.

E. Zusammenfassung

An Paramecien wurden Messungen der Chemotaxis gegen verschiedenen Konzentrationen von Pharmaka vorgenommen. Neben ganglionär angreifenden Mitteln wurden Antisymphotonika, adrenerge Substanzen, Parasympatholytika, Parasympathomimetika und Muskelrelaxantien untersucht. In einer zweiten Versuchsgruppe wurde versucht mit Hilfe der Chemotaxis Antagonismen aufzuzeigen. Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

Methodische Einflüsse

1. Nur in physiologischem Milieu, d. h. in Heuinfustyrödelösung (3%), lassen sich brauchbare chemotaktische Kurven aufstellen (s.S. 16).
2. Aqua dest. als Testmilieu führt zwar zur Empfindlichkeitssteigerung aber zugleich zu größeren Abweichungen. Die Tiere zeigen dabei Randständigkeit im Tropfen und Drehbewegungen, die als Zeichen einer Schädigung aufgefaßt werden (s.S. 15). Aqua dest. ist deshalb als Testmilieu ungeeignet.
3. Die Vorbehandlung muß schonend erfolgen; jedes Schütteln ist zu vermeiden (s.S. 20).
4. Das Testmilieu soll bakterienfrei sein, um eine Wirkung auf die Testsubstanz durch evtl. vorhandene Bakterien auszuschließen (s.S. 6).

Pharmakologische Effekte

1. Versuche in unphysiologischem Milieu (Aqua dest.):

Nach Aqua dest.- Vorinkubation zeigen osmotisch wirksame Stoffe wie Calciumchlorid und Glucose positive chemotaktische Effekte (s.S. 17).

2. Versuche in physiologischem Milieu:

- a. Unter physiologischen Bedingungen (s. oben) findet man bei Zusatz verschiedener Pharmaka keine echte positive, also keine über 50% hinausgehende Chemotaxis.
- b. Bei allen getesteten Stoffgruppen (s. oben) ist eine deutliche Dosiswirkungsbeziehung bezüglich negativer Chemotaxis in bestimmten Bereichen nachweisbar. Die graphische Darstellung der konzentrationsabhängigen Chemotaxis ergibt die Form normaler Dosis - Wirkungskurven mit asymptotisch auslaufenden Maxima und minimalen Schenkeln (s.S.22-28).
- c. Eine Empfindlichkeitsabhängigkeit von Oberflächenaktivität, Salzart und Molekülgröße der Testsubstanzen konnte nicht nachgewiesen werden (s.S. 30).
- d. Durch Vorinkubation mit Acetylcholin vorbehandelte Paramecien zeigen in Abhängigkeit von der Zeit deutlich verminderte Atropinmethylnitratempfindlichkeit (s.S. 34 ff.).
- e. Eine entsprechende Reaktion konnte weder mit Carbacholin und Pilocarpin gegen Atropinmethylnitrat noch mit Acetylcholin gegen Curarin, Pentamethonium und Hexamethonium nachgewiesen werden (s.S. 38).

F. Literaturverzeichnis

1. BALL, G.H.:
Experiments on the Action of various endocrine Substances of Liver and of Glykogen on the Divisionrate of Paramecium.
Univ. California Publ. Zool. 26, 353-377 (1925)
2. BOZLER, G.:
Reizphysiologische Untersuchungen an Paramecien.
Zool. Anz. 2, 124-139 (1926)
3. DRYL, S.:
Effect of Adaption to Enviroment on Chemotaxis on Paramecium.
Acta biol. exper. (Warszawa) 19, 83-94 (1959)
4. FÜRSTER, G.:
Über verschiedene Einflüsse auf die Chemotaxis von Paramecien.
Med. Diss. Mainz 1948, S. 2
5. FORTNER, H.:
Bedeutung der kontraktilen Vakuole bei Paramecien.
Zool. Anz. 60, 217-231 (1924)
6. FORTNER, H.:
Über die Gesetzmäßigkeit der Wirkung des osmotischen Druckes physiologisch indifferenter Lösungen auf einzellige tierische Organismen.
Biol. Zbl. 45, 417-435 (1925)
7. GALIANO, G.F.:
Beitrag zur Untersuchung der Chemotaxis der Paramecien.
Zschr. allg. Physiol. (Jena) 16, 359-372 (1914)
8. GEHRIG, H.:
Über die Entstehung von Modifikationen bei Paramecien durch Behandlung mit Cholin und Atropin.
Med. Diss. Mainz 1949, S. 2
9. GROBICKA, J. u. J. WASILEWSKA:
Próba analizy chemicznej ilós cio wej wymoczka Paramecium caudatum.
Tr. Inst. M. Lenck 3, 1-42 (1925)
10. JOHNSON, C.H. u. C.A. MILLER:
A further Analysis of the Nutrition of Paramecium.
J. Protozool. 3, 221-226 (1956)
11. KANADA, T.:
Some Observations potential Differences across the ectoplasm Membrane of Paramecium.
J. Exper. Biol. (London) 11, 94-102 (1934)
12. KOCH, K.:
Einfluß von Magnesiumionen, Kaliumionen und Acetylcholin auf die Chemotaxis der Paramecien.
Med. Diss. Mainz 1947, S. 2

13. LUDWIG, W.:
Zusammenhang zwischen Populationsdichte, Nahrungs-
dichte und Teilungsrate bei Protisten.
Biol. Gen. (Wien) 4, 351-376 (1928)
14. LUDWIG, W.:
Ursachen der extremen Giftwirkung der Schwermetall-
ionen sowie der Verunreinigung von Wasser und Glas
an Paramecien.
Zschr.vergl.Physiol. (Berlin) 6, 623-687 (1927)
15. LWOFF, A.:
Biochemistry and Physiology of Protozoa
Vol. II New York 1955, S. 99 (Endogenous Respiration)
16. MYER, J.C.:
Relation of Density of Population and certain
other Factors to Survival and Reproduction in
different Biotypes of Paramecium caudale.
J.exp.Zool. 49, 1-44 (1927)
17. NAGEL, H.:
Einfluß verschiedener Narkotika, Gase und Salze
auf die Schwimmgeschwindigkeit von Paramecien.
Zschr. allg. Physiol. (Jena) 6, 195-218 (1907)
18. NEUBEHL, H.:
Untersuchungen über den Acetylcholin-Aneurin-
antagonismus bei Paramecien.
Med. Diss. Mainz 1947, S. 3
19. PARDUCZ, G.:
Reizphysiologische Untersuchungen an Ziliaten.
Annls. hist.-nat.Mus.natn.hung. 7, 189-195 (1956)
20. SCHMOLL, G.:
Versuche über die Chemotaxis von Paramecien gegen-
über Cholinderivaten und Kaliumchlorid.
Med. Diss. Mainz 1949, S. 3
21. SCHWEN, G.:
Über das Messen der Oberflächenspannung von wäss-
rigen Tensidlösungen.
Tenside 1, 46-50 (1964)
22. SERAVIN, L.N.:
Effect of chemical Agents on the Mobility of
Paramecium caudatum.
Zool. Zurn. 38, 626-630 (1959)
23. UBRIG, H.:
Der Einfluß von Sauerstoff und Kohlendioxyd auf
die taktischen Bewegungen einiger wassertiere.
Zschr.vergl.Physiol. (Berlin) 34, 479-507 (1952)

24. WEATHERBY, J.H.:
Stickstoffausscheidung bei Protozoen.
Physiol. Zool (Chicago) 2, 375-394 (1929)
25. WENSE, Th. u. BAYER:
Kolloidchemische Veränderungen als vermutliche
Grundlage vegetativer Nervenvorgänge nach
Untersuchungen an Paramecien.
Arch.exper.Path.Pharmak. 179, 475-482 (1935)
26. WICHTERMANN, R.:
The Biology of Paramecium
New York 1952, S. 48 u. 54
27. WOODRUFF, L.L.:
Thirteen Thousand Generations of Paramecium
Proc.Soc.Exper.Biol.Med. N.Y. 26, 707-709 (1928)

L e b e n s l a u f

Als Sohn des Ingenieurs Gerhard Schmittel und seiner Ehefrau Herta wurde ich am 20. August 1934 in Leipzig geboren.

Nach Besuch der Realschule von 1946 bis 1955 absolvierte ich im Frühjahr 1955 das Abitur in Mannheim.

Von 1955 bis 1957 war ich als Apothekerpraktikant in der Städt. Krankenhausapotheke (Dr. Markert), Ludwigshafen und in der Adler - Apotheke (Dr. Ball), Ludwigshafen tätig.

1957 nahm ich das pharmazeutische Studium in Mainz auf. Im Herbst 1960 bestand ich das pharmazeutische Staatsexamen. Im Anschluß daran nahm ich das Medizinstudium auf, um im Frühjahr 1966 das medizinische Staatsexamen vor dem hiesigen Prüfungsausschuß abzulegen.

Horst Schmittel

